

機関番号： 10105

研究種目： 基盤研究C（一般）

研究期間： 2008～2010

課題番号： 20580149

研究課題名（和文） 森林再生の初期段階における外生菌根菌感染源の移入経路の解明

研究課題名（英文） Ecological study of introduction of ectomycorrhizal fungi inoculum under primary succession on coastal sand dunes.

研究代表者

橋本 靖 (HASHIMOTO YASUSHI)

帯広畜産大学・畜産学部・准教授

研究者番号： 40332481

研究成果の概要（和文）： 襟裳岬海岸部の樹木がまだ定着していない場所において、感染源の供給元から離れた場所でも、複数種の外生菌根菌が活性を保持したまま土壤中に存在していること、また、それらの菌はエゾシカやエゾヤチネズミがきのこを採食し糞を排泄する過程で、感染源の運搬要因として働くことにより維持されている可能性が示された。森林の維持を考える際、植物、菌、動物の三者間の相互関係は、重要であると考えられる。

研究成果の概要（英文）： Our results suggested that ectomycorrhizal fungi were survived with keeping activity in sand dune soils where host plants did not exist and far from the potential source area of the fungi inoculum. It is also suggested that wild mammals such as deer and mouse contribute to the dispersion of ectomycorrhizal fungi inoculum in this type of sites. The tripartite relationships between woody plants, mycorrhizal fungi and mammals would be important for regeneration of woody plants in coastal forest habitats.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野： 農学

科研費の分科・細目： 森林学・森林科学

キーワード： 森林生態、初期遷移、外生菌根、共生、海岸

1. 研究開始当初の背景

森林を構成する木本植物の多くは、きのこを形成するなかまの菌類と、外生菌根という組織を根に形成して、相利共生関係を結んでいる。菌は植物の根が届かない場所へ菌糸を伸長させ、水分や無機養分を吸収し植物に供給する代わりに、植物の光合成産物である糖を受け取っている。この菌根共生は、植生のない、或いは乏しい攪乱跡地などの環境に、植物が定着して遷移を起こす際に、特に重要

であると考えられている。海岸砂丘の安定と植生の定着及びその遷移においても、菌根菌の定着が必須であると考えられている。

一方で、この外生菌根菌は分解者としての能力は低いとされ、生育に必要な糖の獲得を植物に大きく依存している。そのため、宿主植物の存在しない土壤中、植物根と菌根を形成せずに、どの程度の期間生存できるのか、よく分かっていない。すなわち、植物が新たな立地に定着する際に、植物種子の侵入とそ

の発芽定着が先に起こるのか、それとも、菌の侵入と土壌中での菌糸伸長が先に起きているのか、明らかになっていない。

一般に、きのこを作る外生菌根菌の感染源の運搬要因としては、主に風が考えられる。しかし、風のみにも頼る運搬戦略はそもそも安定的ではなく、有性生殖を行うことを考えても効率が悪いと思われる。風以外の運搬要因として、動物によるものが知られている。哺乳類はきのこを食べることが知られ、比較的移動距離が長い場合、もし、捕食した後、排泄された際に孢子などに感染能力が残っているのなら、菌根菌の分布の拡大において非常に重要である。海外において、幾つかの哺乳類の糞は、菌根菌の感染源として働くことが知られている。しかし、実際の植物遷移の現場で、これらの哺乳類によって、どれほどの頻度で、どのような外生菌根菌が運搬されているのか、実際に野外で調べられた例はほとんど無い。

2. 研究の目的

新たな立地に樹木が定着する際に、どのようなタイミングで、どのような菌と共生関係を成立させているのかは、植生の更新メカニズムを考えるうえで興味深い。

本研究では、北海道襟裳岬の海岸砂丘を対象として、宿主樹木がいまだに定着していない場所の土壌中に、樹木の共生菌である外生菌根菌が活性を持って存在しているのか否か、また、その外生菌根菌の種はどのようなものか、さらに、それら外生菌根菌は主にどのような経路を経て、このような場所に存在するのかを、特に、野生哺乳類による運搬に注目して明らかにした。

3. 研究の方法

(1) 宿主である木本植物が定着していない場所で、土壌中に存在する外生菌根菌を明らかにするため、以下の調査実験を行った。

内陸側のクロマツ植林地から海岸線に向かって3本のラインを設け、そのライン上から等間隔で土壌を採取し、草本や樹木の有無など植生の違いと、土壌中に存在する樹木の共生菌の種類と量を比較した。また、感染源の供給元となるクロマツ植林地からの距離を変えた、ほぼ同様の植生条件の3ヶ所の調査地から各々土壌を採取し、その中の外生菌根菌の有無と種構成を調査し比較した。

これらの土壌採取は各々1年ずつ初夏と秋の二回行った。各土壌中の外生菌根菌の検出は、採取土壌に無菌条件で発芽させたクロマツ実生を植え付けて、一定期間生育させた後に、その根系に形成された外生菌根を調べることにより調査した。

(2) 土壌採取地とその周辺に生息するシカと

ネズミの糞による外生菌根菌の感染源散布の状況を明らかにするため以下の調査実験を行った。

各調査地に散在するシカの糞を採集し実験室に持ち帰った後、滅菌した土壌に植え付けたクロマツ実生の根系に、その懸濁液を接種することによって、含まれる外生菌根菌種を明らかにした。調査地内で3年間にわたり季節を変えて採取した、合計87ヶ所分の糞を対象に調べた。

また、ネズミ類の糞を得るために、同調査地に2年間に初夏と秋の2回トラップを仕掛けてネズミ個体を捕獲し、その糞の回収を行った。各採取時には100個のトラップを用い、合計15個体のエゾヤチネズミを捕獲しその糞を採取した。これらの糞も、シカの糞と同様の方法で糞中に含まれる外生菌根菌種を明らかにした。

(3) 土壌中に存在する外生菌根菌の検出、および、シカ、ネズミの糞からの外生菌根菌の検出のための実験において、クロマツ実生の根系に形成された外生菌根は、DNAの解析によって菌の種同定を行った。

はじめに、外生菌根の実体顕微鏡下での形態の違いにより、大まかに区別した後、ランダムに選んだ外生菌根端から、CTABを用いた手法でDNAの抽出を行った。その後、プライマーITS1-FとITS4を用いたPCR法で、rDNAのITS領域を増幅し、ゲルによる電気泳動によって増幅を確認後、RFLP法によって各形態を比較し確認してタイプ分類した。これらの外生菌根タイプは、調査年ごとに検出された各RFLPタイプを、各々複数サンプルランダムに選び、さらにダイレクトシーケンス法によりITS領域の配列を決定し、DDBJのBLAST検索をもちいて、最も相同性の高い菌の登録データから、各タイプの外生菌根菌の種を推定した。

4. 研究成果

(1) 土壌中に存在する外生菌根菌

2回の調査の総計で、約91%の土壌ブロックから外生菌根菌が検出された。当調査地の海岸部では、宿主植物の生存しない海岸砂土中においても、外生菌根菌が感染能力を保持したまま土壌中に存在していると考えられた。

海岸線からの内陸の植林地にむけて等間隔で採取した土壌からは、バラツキがあるものの、海岸近くも含めて広く外生菌根菌が存在することが明らかになった。出現する菌は、植林地が近くなるにつれて、多くの菌が検出されたが、海岸近くでは*Rhizopogon* sp. の一種のみが検出された。

クロマツの外生菌根菌の感染源の供給場所となりうるクロマツ林との距離ごとに土

壤の菌根菌の量を比較した結果、クロマツ林からの距離が比較的遠い海岸地において、有意に菌の検出量が少なかった。一方で、各調査地で出現した菌の種構成は、その出現種に多少の入れ替わりがあるものの、感染源の供給元からの距離によって違いは生じないようだった。出現した外生菌根菌の種とその出現率を見ると、1つの例外を除き、全ての調査時期・調査区で *Rhizopogon* sp. #1 (シヨウロ属の一種) が優占していた。*S. granulatus* が優占していた唯一の調査地でも、*Rhizopogon* sp. #1 は30%以上の割合で存在していた。出現した10種のうちの4種が suilloid 菌 (ヌメリイグチの仲間) で占められていた。

以上から、感染源の供給元からの距離が、宿主植物の生育していない場所の土壤中の菌根菌の量に、何らかの影響を及ぼしていると考えられた。また、当調査地の土壤中では、suilloid 菌、特に *Rhizopogon* sp. #1 と *S. granulatus* の2種の外生菌根菌が、宿主植物の存在しない条件下でも、安定的に多く感染能力を保持した活性を持った状態で生育していると考えられた。

(2) シカによる孢子散布

シカの糞中に存在する外生菌根菌の感染源を調べた結果、初夏 (6月) に採取された糞サンプルでは、16.7%の糞から3種の菌が、また、夏 (8月) に採取されたサンプルでは、6.7%から2種の菌が、さらに、秋 (9月) に採取された糞サンプルでは、37.0%から5種の菌が検出され、全体では合計87サンプル糞中の内17サンプル (約19.5%) から6種の外生菌根菌が検出された。そのうち多く見られた、*S. granulatus*、*S. luteus*、*S. bovinus* は食用キノコとしても知られ、シカが採食していても不思議はない菌である。また、今回シカ糞から検出された *Rhizopogon* sp. #1、*S. granulatus*、*S. luteus* は、先に示した砂質土壤中からも検出されており、エゾシカによってこれら外生菌根菌の感染源が運搬されている可能性が示された。今回のシカの糞からの外生菌根菌の出現率と、土壤中からの出現種との一致を考え合わせると、シカ糞による感染源の分散はまれな現象ではなく、生態的に有効な経路であると考えられる。

(3) ネズミによる孢子散布

4回の捕獲調査の結果、秋の2回で合計15個体のエゾヤチネズミが捕獲され、その糞が採取出来た。これらを用いて調べた結果、対象とした15個体のうち、4個体の排泄した糞から、外生菌根菌が検出された。特に2009年に採取したネズミでは、6個体のうち4個体で菌が検出された。また、これらネズミの糞から検出された菌の種は、*Rhizopogon* sp.

#1 一種のみであった。これは同調査地の土壤中で最も優占していた外生菌根菌と同一種であった。以上から、ネズミはシカと同様に、もしくは優占種 *Rhizopogon* sp. #1 に対して選択的に、外生菌根菌の感染源の運搬要因として機能している可能性が考えられた。

(4) 結論

本研究の結果から、北海道襟裳岬の海浜砂丘において、樹木の共生菌である外生菌根菌は、樹木が侵入する前から、シヨウロ属の1種とヌメリイグチの仲間を中心にして、土壤中で活性を持って存在していることが明らかになった。また、その侵入経路には、野生の哺乳類が関わっており、エゾシカやエゾヤチネズミが外生菌根菌の作るきのこを採食し、その採食場所から離れた場所で糞として排泄することによって、これらの菌の感染源を運搬している可能性が高いことが示された。さらに、糞からの菌の出現の頻度は低く無いこと、また、土壤中から多く検出された菌と、糞中に存在した菌とが同種であったことから、彼らはきのこをある程度積極的に採食しており、結果として主要な感染源運搬の要因となっていると考えられる。これら菌の感染源は、運搬された先に宿主植物がない場合でも、ある程度長期間活性を持って存在し続け、偶発的に起こる樹木の種子の侵入後の、発芽定着を助けている可能性がある。このように、植物、菌、動物の三者間の相互関係が、森林の更新と維持に役立っていると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計0件)

〔学会発表〕 (計2件)

- ① 橋本靖、島本繭、中山文樹、村上菜穂子、平澤祥貴、北海道えりも海岸部における外生菌根菌の分布拡大と野生哺乳類の関わり、第121回日本森林学会大会 (筑波)、2010. 4. 2~2010. 4. 15
- ② 橋本靖、村上菜穂子、平澤祥貴、海岸砂質土壤中に宿主樹木の定着前から存在する外生菌根菌、第120回日本森林学会大会 (京都)、2009. 3. 25~2009. 3. 28

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 靖 (HASHIMOTO YASUSHI)
帯広畜産大学・畜産学部・准教授
研究者番号：40332481

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし